

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2001-240549

(P2001-240549A)

(43)公開日 平成13年9月4日(2001.9.4)

| (51)Int.Cl. <sup>7</sup> | 識別記号 | F I           | テーマコード*(参考)                               |
|--------------------------|------|---------------|---|
| A 6 1 K 35/64            |      | A 6 1 K 35/64 | 4 B 0 1 8                                 |
| A 2 3 L 1/076            |      | A 2 3 L 1/076 | 4 B 0 4 1                                 |
| A 6 1 K 35/78            |      | A 6 1 K 35/78 | M 4 C 0 8 7<br>V 4 C 0 8 8<br>J 4 H 0 4 5 |

審査請求 未請求 請求項の数7 O L (全 6 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000-55078(P2000-55078)

(71)出願人 000113470

ポーラ化成工業株式会社

静岡県静岡市弥生町6番48号

(22)出願日 平成12年3月1日(2000.3.1)

(72)発明者 鎌倉 昌樹

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポーラ  
戸塚研究所内

(72)発明者 福田 寿之

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポーラ  
戸塚研究所内

(72)発明者 三谷 信

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポーラ  
戸塚研究所内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 免疫増強剤及びそれを含有してなる組成物

(57)【要約】

【課題】 日常的な手法により免疫能を増強する手段を提供する。

【課題の解決手段】 ローヤルゼリー全蛋白質当たり9重量%以上含有するものであることを特徴とする、ローヤルゼリーからなる免疫増強剤を食品などの組成物に含有させる。

1) ローヤルゼリー中の蛋白質の非変性ポリアクリラミドゲル電気泳動において単一バンドを形成する。

2) 還元条件下でのSDS-ポリアクリラミドゲル電気泳動により測定される分子量が約57キログルトンである。

3) 配列式1のアミノ酸番号1~8のアミノ酸配列を含む。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ローヤルゼリーからなる免疫増強剤。  
 【請求項2】 ローヤルゼリーが、下記に示す蛋白質をローヤルゼリー全蛋白質当たり9重量%以上含有するものであることを特徴とする、請求項1に記載の免疫増強剤。

- 1) ローヤルゼリー中の蛋白質の非変性ポリアクリラミドゲル電気泳動において单一バンドを形成する。
- 2) 還元条件下でのSDS-ポリアクリラミドゲル電気泳動により測定される分子量が約57キロダルトンである。
- 3) 配列式1のアミノ酸番号1~8のアミノ酸配列を含む。

【請求項3】 増強される免疫が液性免疫であることを特徴とする、請求項1又は2に記載の免疫増強剤。

【請求項4】 請求項1~3何れか1項に記載の免疫増強剤を含有することを特徴とする、組成物。

【請求項5】 食品であることを特徴とする、請求項4に記載の組成物。

【請求項6】 更に、補氣薬を含有することを特徴とする、請求項4又は5に記載の組成物。

【請求項7】 補氣薬が、ニンジン(ウコギ科ニンジン)、オウセイ(ユリ科オウセイ)及びカンゾウ(マメ科カンゾウ)から選ばれる1種乃至は2種以上である、請求項6に記載の組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、免疫増強剤及びそれを含有してなる食品などの組成物に関する。

## 【0002】

【従来の技術】ペニシリン、セファロスボリン、ニューキノロン等の新規の抗生物質の開発により、全ての感染症は克服されたかのような幻想は、耐性株の出現とその急速な伝搬により、前記抗生物質の有効性は著しく損なわれ、リエマージェント化した感染症に対して為すすべの無い現状が出現している。この様な背景と相まって、環境改善によってもたらされた、クリーンな環境或いは快適な環境によって、感染症に対する人間の抵抗力も低下している。これは、免疫能の低下によるところが少なくない。更に、高ストレス負荷の現代の生活環境も、ストレスの過負荷を通じて免疫能を下げる要因となっていることは否めない。この様な背景をもとに、体质を改善し、免疫能を向上させる手立てが望まれていた。この様な免疫能の向上策としては、医薬を用いた場合には副作用などの問題が少なからずあるため、日常的な手法によって、例えば、食品などを通じて行うことが好ましいと思われるが、ラクトフェリンなどが僅かに知られているのみで、求めているにもかかわらず、この様な素材が見つかっていないのが現状である。

【0003】一方、ローヤルゼリー中に下記に示すタン

パク質が含有されており、該タンパク質が免疫増強作用を有し、該タンパク質を全タンパク質量に対する割合で、9重量%以上含有するローヤルゼリーに免疫増強作用が著しいことは全く知られていない。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、この様な状況下為されたものであり、日常的な手法により免疫能を増強する手段を提供することを課題とする。

## 【0005】

【課題の解決手段】本発明者らは、この様な状況に鑑みて、日常的な手法により免疫能を増強する手段を求めて、銳意研究努力を重ねた結果、下記に示すローヤルゼリー中のタンパク質に優れた免疫増強作用を見出し、該蛋白を含有するローヤルゼリーをアブリケートすることにより、この様な免疫増強が為し得ることを見出し、発明を完成させた。即ち、本発明は、次に示す技術に関するものである。

(1) ローヤルゼリーからなる免疫増強剤。

(2) ローヤルゼリーが、下記に示す蛋白質をローヤルゼリー全蛋白質当たり9重量%以上含有するものであることを特徴とする、(1)に記載の免疫増強剤。

- 1) ローヤルゼリー中の蛋白質の非変性ポリアクリラミドゲル電気泳動において单一バンドを形成する。
- 2) 還元条件下でのSDS-ポリアクリラミドゲル電気泳動により測定される分子量が約57キロダルトンである。
- 3) 配列式1のアミノ酸番号1~8のアミノ酸配列を含む。

(3) 増強される免疫が液性免疫であることを特徴とする、(1)又は(2)に記載の免疫増強剤。

(4) (1)~(3)何れか1項に記載の免疫増強剤を含有することを特徴とする、組成物。

(5) 食品であることを特徴とする、(4)に記載の組成物。

(6) 更に、補氣薬を含有することを特徴とする、

(4)又は(5)に記載の組成物。

(7) 補氣薬が、ニンジン(ウコギ科ニンジン)、オウセイ(ユリ科オウセイ)及びカンゾウ(マメ科カンゾウ)から選ばれる1種乃至は2種以上である、(6)に記載の組成物。

以下、本発明について、実施の形態を中心に詳細に説明を加える。

## 【0006】

【発明の実施の形態】(1) 本発明の免疫増強剤  
 本発明の免疫増強剤は、ローヤルゼリーからなることを特徴とする。ローヤルゼリーの化学的組成は、生産地により、多少の差異はあるが、水分6.5~7.0%、蛋白質15~20%、炭水化物10~15%、脂肪1.7~6%、灰分0.7~2%含むとされている。ローヤルゼリーの生物学的・薬理学的作用については、老化予防作

用、酵素活性化作用、抗菌作用、抗腫瘍作用、血液・循環器に対する作用などが知られている。本発明のローヤルゼリーである免疫増強剤は、後記実施例に示す如く、リンパ球の幼若化を促進し、これによって免疫能を高める作用を有する。この様な作用の有効性を担う物質は下記に示す性質を有するタンパク質であり、このタンパク質は経時的に劣化しやすいため、本発明の免疫増強剤としてローヤルゼリーを使用する場合には、このタンパク質の量をコントロールする必要がある。このものの好ましい含有量は、ローヤルゼリー中の全蛋白量に対して、9重量%以上であり、更に好ましくは11重量%以上である。本発明の、組成物に於ける免疫増強剤である、ローヤルゼリーの好ましい含有量は、組成物全量に対して、1～50重量%であり、更に好ましくは5～30重量%が好ましい。これは、効果発現と処方自由度の兼ね合わせからである。

- 1) ローヤルゼリー中の蛋白質の非変性ポリアクリラミドゲル電気泳動において単一バンドを形成する。
- 2) 還元条件下でのSDS-ポリアクリラミドゲル電気泳動により測定される分子量が約57キログラムトントンである。
- 3) 配列式1のアミノ酸番号1～8のアミノ酸配列を含む。

#### 【0007】(2) ローヤルゼリー中の分子量57キログラムトントン蛋白質の定性方法

凍結乾燥したローヤルゼリーを0.7重量%で10 mMのトリス塩酸緩衝液(pH 7.0)に溶解し、UF 10万(Miniplate 100; 限外済過)で6倍濃縮、7回脱塩を行い、その済液をさらにUF 3万(Miniplate 30; 限外済過)で8倍濃縮、1回脱塩を行い、分子量10万～3万の分画を得た。上記の分子量10万～3万のサンプルは、陰イオン交換クロマトグラフィー、ゲル済過クロマトグラフィーによって分画することで、分子量57キログラムトントン蛋白質を分離できる。陰イオン交換クロマトグラフィーとしては、通常に知られている方法に従って行えば良く、例えば東ソーリ株式会社製DEAE-Toyopearl 1650Mをカラムとして用いて、20 mMトリス塩酸緩衝液(pH 7.0)を展開液A、20 mMトリス塩酸緩衝液(pH 7.0)と1 M NaClを展開液Bとしてグラジェントにより、流速を5 ml/min、280 nmの吸光度で検出し、2.5 ml/チューブで分画したフラクションN o. 119～127に分子量57キログラムトントンの蛋白質画分を検出することができる。さらにこの画分をゲル済過クロマトグラフィーにより、これは通常に知られている方法に従って行えば良く、この様な好ましい例としては、例えば、ファルマシア株式会社製HiLoad 16/60 Superdex 600をカラムとして用いて、0.15 M 塩化ナトリウム含有50 mMリン酸カリウムバッファー pH 7.0を展開液とし、流速を1.0 ml/min

/min、カラム温度を35°Cに設定し、280 nmの吸光度で検出し、2.0 ml/チューブで分画したフラクションN o. 35～43に分子量57キログラムトントンの蛋白質を検出することができる。(電気泳動にて同一蛋白質を確認)また、既知分子量のゲル済過分析の結果より、上記蛋白質は、分子量57キログラムトントンモノマー蛋白質であると確定された。又、この蛋白質は、N-グルコシダーゼFによって消化され、消化後の分子量が48キログラムトントンになるため糖蛋白質であることを本発明者は見出している。

#### 【0008】(2) 本発明の組成物

本発明の組成物は、上記免疫増強剤を含有し、免疫増強用であることを特徴とする。組成物としては、免疫増強用であれば、特段の限定は受けず、例えば、化粧料、医薬品或いは食品などが例示できるが、これらの内では、食品に適用するのが特に好ましい。これは、本発明の目的である、日常的な手法により簡便に免疫能を増強させると言う主旨に合致するからである。本発明の組成物においては、必須成分である、上記免疫増強剤以外に、好ましい成分として、補氣薬を含有する。補氣薬とは、漢方の薬効分類において、気力を充実させる効果を有する薬用植物の抽出エキス又はその溶媒除去物をいい、例えば、ニンジン(ウコギ科ニンジン)、オウセイ(ユリ科オウセイ)及びカンゾウ(マメ科カンゾウ)から選ばれる1種乃至は2種以上が好ましく例示できる。抽出に用いる溶媒としては、極性溶媒が好ましく、中でも水及び/又はエタノールが特に好ましい。補氣薬の漢方生薬の植物体1重量部に対して、1～10倍量の溶媒を加え、室温であれば数日間、沸点付近の温度であれば、数時間浸漬し、必要に応じて済過しすれば得ることが出来る。溶媒除去物は、かかる抽出物を減圧濃縮したり、凍結乾燥することにより得ることが出来る。本発明の組成物に於けるかかる補氣薬の好ましい含有量は、組成物全量に対して、0.1～20重量%であり、更に好ましくは、1～10重量%である。これは、この範囲に於いて、本発明の免疫増強剤の効果を高める作用を發揮するからである。

【0009】本発明の組成物においては、上記任意の成分以外に、かかる化粧料、医薬品、食品で使用される任意成分を含有することが出来る。この様な任意成分としては、白糖、乳糖等の賦形剤、デンプン、ゼラチン等の結合剤、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム等の崩壊剤、大豆レシチン、ショ糖脂肪酸エステル等の界面活性剤、タルク、ロウ類等の滑潤剤、軽質無水ケイ酸、乾燥水酸化アルミニウムゲル等の流動促進剤、生理食塩水、ブドウ糖水溶液等の希釀剤、嗜味嗜臭剤、着色剤、殺菌剤、防腐剤、香料等が挙げられる。本発明の組成物はこれら必須成分、好ましい成分、任意成分とを常法に従って処理することにより製造することが出来る。かくして得られた

本発明の組成物は、リンパ球の幼若化を促進し、以て体液性免疫を高め、免疫増強を促すことが出来る。この様な効果により、本発明の組成物をアブリケートする事で、感染症などに対する抵抗力を高めることが出来る。

#### 【0010】

【実施例】以下に実施例を挙げて、本発明について更に詳細に説明を加えるが、本発明が、これら実施例にのみ限定されることは言うまでもない。

#### 【0011】<実施例1>下記の処方に従って、本発明\*

|                         |        |
|-------------------------|--------|
| ローヤルゼリーのフリーズドライ粉末       | 195重量部 |
| (本発明の免疫抑制剤：57Kd11.6%含有) |        |
| 乳糖                      | 15重量部  |
| 卵殻カルシウム                 | 25重量部  |
| 蔗糖脂肪酸エステル               | 5重量部   |
| (合計)                    | 240重量部 |

【0012】<実施例2>実施例1の錠剤を用いて、免疫増強作用を、リンパ球の幼若化試験によって調べた。即ち、被験者に実施例1の錠剤(200mg)を3錠服用してもらい、その服用前と2時間後に採血し、ヘパリンを加え、磷酸緩衝生理食塩水(pH7)にて3倍に希釈し、比重1.077のフィコール・ハイパック液に重層し、400g(重力)で30分間遠心しリンパ球を採取した。これをpH7.2に調整し、ミリポアフィルターで滅菌した、10%FBS、ペニシリソG(100単位/m1)、ストレプトマイシン(100μg/m1)加 RPMI 1640培地に分散させ、5×105セル/m1に濃度を調整し、マイクロプレートに200μlずつ分注した。これに同培地で3μg/m1に調整したPHA(T細胞マイトーゲン)を20μlずつくわえ2日間培養し、トリチウムラベルしたチミジン1μCi/m1を加え更に1日培養した。リンパ球をセルハーベスターを用いて回収し、液体シンチレーション用のバイアルに移し、これにシンチレーター5m1ずつを加え、シンチレーションカウンターにてβ線の活性を測定し、チミジンの取込量とした。結果は、服用前の活性が、56.2%

|                   |        |
|-------------------|--------|
| ローヤルゼリーのフリーズドライ粉末 | 175重量部 |
| ニンジン(紅参)エキス       | 20重量部  |
| 乳糖                | 15重量部  |
| 卵殻カルシウム           | 25重量部  |
| 蔗糖脂肪酸エステル         | 5重量部   |
| (合計)              | 240重量部 |

【0014】<実施例4>実施例1、3と同様に本発明の組成物である被覆錠剤3を作成した。このものも優れ★

|                   |        |
|-------------------|--------|
| ローヤルゼリーのフリーズドライ粉末 | 175重量部 |
| オウセイエキス           | 20重量部  |
| 乳糖                | 15重量部  |
| 卵殻カルシウム           | 25重量部  |
| 蔗糖脂肪酸エステル         | 5重量部   |
| (合計)              | 240重量部 |

【0015】<実施例5>実施例1、3と同様に本発明☆50☆の組成物である被覆錠剤3を作成した。このものも優れ

\*の成形組成物である被覆錠剤(健康食品)を作成した。即ち、下記の錠剤成分を25℃、湿度30~40%の条件下、良く混合した後、打錠し素錠を得た。素錠の重量は平均240mgであった。この素錠を糖衣パンに移し、5%シェラックエタノール溶液を噴霧しながらコーティングし、シェラックを素錠に対して1重量%被覆した。更に、ゼインを5%含有する80%エタノール水溶液を噴霧して、ゼインを素錠に対して1重量%被覆し、本発明の組成物である被覆錠剤1を得た。

#### 195重量部

#### 6%含有)

#### 15重量部

#### 25重量部

#### 5重量部

#### 240重量部

※34であり、服用2時間後が60732であり、チミジンの取込量が8%増加し、本発明の免疫増強用の組成物を服用する事により、リンパ球が幼若化し、免疫応答力が高まっていることがわかる。

20 【0013】<実施例3>下記の処方に従って、本発明の組成物である被覆錠剤(健康食品)を作成した。即ち、下記の錠剤成分を25℃、湿度30~40%の条件下、良く混合した後、打錠し素錠を得た。素錠の重量は平均240mgであった。この素錠を糖衣パンに移し、5%シェラックエタノール溶液を噴霧しながらコーティングし、シェラックを素錠に対して1重量%被覆した。更に、ゼインを5%含有する80%エタノール水溶液を噴霧して、ゼインを素錠に対して1重量%被覆し、本発明の被覆錠剤2を得た。このものについて、実施例2の試験法にてリンパ球の幼若化を調べたところ、服用前58088で服用2時間後64659となり、本発明の組成物を服用することにより11%の幼若化が認められ、免疫応答力が向上していることがわかった。又、実施例2の結果との比較において、ニンジン等の補気薬成分を含有することが好ましいこともわかる。

#### 175重量部

#### 20重量部

#### 15重量部

#### 25重量部

#### 5重量部

#### 240重量部

★た免疫増強作用を有していた。

#### 175重量部

#### 20重量部

#### 15重量部

#### 25重量部

#### 5重量部

#### 240重量部

た免疫増強作用を有していた。

|                   |           |
|-------------------|-----------|
| ローヤルゼリーのフリーズドライ粉末 | 1 7 5 重量部 |
| カンゾウエキス           | 2 0 重量部   |
| 乳糖                | 1 5 重量部   |
| 卵殻カルシウム           | 2 5 重量部   |
| 蔗糖脂肪酸エステル         | 5 重量部     |
| (合計)              | 2 4 0 重量部 |

## 【 0 0 1 6 】

## \* \* 【配列表】

## SEQUENCE LISTING

&#60110&#62 ポーラ化成工業株式会社  
 &#60120&#62 免疫増強剤及びそれを含有してなる組成物  
 &#60130&#62 P 20000291  
 &#60140&#62  
 &#60141&#62 622000-3-1-  
 &#60160&#62 1  
 &#60170&#62 PatentIn Ver.2.0

## 【 0 0 1 9 】

&#60210&#62 1  
 &#60211&#62 25  
 &#60212&#62 PRT  
 &#60213&#62 Apis mellifera  
 &#60220&#62  
 &#60221&#62 UNSURE  
 &#60222&#62 (24)  
 &#60223&#62 Xaa=unknown  
 &#60BR&#62  
 &#60400&#62 1  
 Asp Ile Leu Arg Gly Glu Ser Leu Leu Lys Lys Leu Pro Ile Leu His  
 1 5 10 15  
 Glu Met Lys Phe Phe Asp Tyr Xaa Asp  
 20 25

【発明の効果】本発明によれば、日常的な手法により免※ ※疫能を増強する手段を提供することができる。

## フロントページの続き

| (51)Int.C1. <sup>7</sup> | 識別記号  | F I            | テーマコード(参考) |
|--------------------------|-------|----------------|------------|
| A 6 1 K 35/78            |       | A 6 1 K 35/78  | W          |
| A 6 1 P 37/04            |       | A 6 1 P 37/04  |            |
| C 0 7 K 14/435           | Z N A | C 0 7 K 14/435 | Z N A      |
| // A 2 3 L 1/305         |       | A 2 3 L 1/305  |            |

## (72)発明者 宮崎 博隆

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポーラ  
 戸塚研究所内

F ターム(参考) 4B018 MD20 MD54 MD61 MD63 MD76  
ME09  
4B041 LC10 LD06 LK32 LK40  
4C087 AA01 AA02 BB22 MA02 MA35  
MA52 NA14 ZB09 ZB22 ZC75  
4C088 AB18 AB60 AB85 BA09 BA10  
CA05 CA08 ZB09 ZB22 ZC75  
4H045 AA30 BA18 CA51 EA01 FA71  
GA22 HA06